

FACULTAD DE MEDICINA. GRADO EN MEDICINA.



TRABAJO FIN DE GRADO

CLOSTRIDIUM DIFFICILE: SITUACIÓN ACTUAL

AUTOR: ANA MARGARIDA LOPES SIMÕES

TUTOR: ENRIQUE GARCÍA SÁNCHEZ

SALAMANCA, MAYO 2018

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
1. INTRODUCCIÓN	7
1.1. Epidemiología	7
1.2. Patogenia.....	7
1.3. Factores de Riesgo	9
1.4. Manifestaciones Clínicas	10
1.5. Protocolos de Diagnóstico	11
1.6. Tratamiento Actual.....	15
2. JUSTIFICACIÓN	17
3. OBJETIVOS	18
4. MATERIAL Y MÉTODOS	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
5.1. Incidencia en España, Europa y USA y el Coste del Tratamiento.....	20
5.2. Utilidad de los Biomarcadores.....	21
5.3. Nuevas Perspectivas Terapéuticas	22
5.4. Medidas de Prevención y Control de la ICD	24
6. CONCLUSIÓN.....	26
7. BIBLIOGRAFÍA	27

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.....	10
TABLA 2.....	10
TABLA 3.....	11

TABLA 4.....11

TABLA 5.....13

TABLA 6.....16

TABLA 7.....21

TABLA 8.....25

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.....8

FIGURA 2.....9

FIGURA 3.....14

FIGURA 4.....20

RESUMEN

Introducción: *Clostridium difficile* es la primera causa de diarrea nosocomial en nuestro medio. En los últimos años ha aumentado su incidencia, recurrencia y morbilidad por la aparición de cepas más virulentas y resistentes al tratamiento habitual lo que hace necesario buscar nuevas alternativas en el diagnóstico, tratamiento y prevención.

Objetivo: hacer una revisión bibliográfica sobre la situación actual de *C. difficile*.

Estrategia de búsqueda: se ha utilizado la base de datos online “PubMed MEDLINE”

Resultados: se han analizado diferentes parámetros como el coste asociado al tratamiento de la infección por *C. difficile*, nuevos métodos diagnósticos (como los biomarcadores), estrategias terapéuticas (como el trasplante fecal) y medidas preventivas (probióticos).

Conclusiones: se hace necesario implantar medidas profilácticas adecuadas, un diagnóstico precoz y un tratamiento eficaz. La sospecha clínica sigue siendo el punto de partida para un correcto tratamiento y para la disminución de la incidencia.

PALABRAS CLAVE

Clostridium difficile. Infección. Epidemiología. Diagnóstico. Tratamiento. Prevención.

ABSTRACT

Introduction: *Clostridium difficile* is the leading cause of nosocomial diarrhea in our environment. In recent years, its incidence, recurrence and morbidity and mortality have increased due to the appearance of more virulent strains resistant to the usual treatment, which makes it necessary to look for new alternatives in diagnosis, treatment and prevention.

Objective: to make a review about the current situation of *C. difficile*.

Search strategy: the online database "PubMed MEDLINE" was used

Results: Different parameters have been analyzed, such as the cost associated with the treatment of *C. difficile* infection, new diagnostic methods (such as biomarkers), therapeutic strategies (such as faecal transplantation) and preventive measures (probiotics).

Conclusion: It is necessary to implant adequate prophylactic measures, an early diagnosis and an effective treatment. Clinical suspicion remains the starting point for correct treatment and for the reduction of incidence.

KEYWORDS

Clostridium difficile. Infection. Epidemiology. Diagnosis. Treatment. Prevention.

1. INTRODUCCIÓN

El *Clostridium difficile* (CD) es un bacilo grampositivo, esporulado, anaerobio estricto que se transmite por vía fecal-oral [1,2], descrito en 1935 como parte de la flora intestinal de los neonatos sanos [3,4]. CD es mundialmente reconocido como la principal causa de diarrea nosocomial, asociado a una gran morbilidad y representa un desafío en la práctica clínica. [5,6]. Su epidemiología ha sufrido bastantes cambios en los últimos 15 años, tanto en Estados Unidos como en Europa, con un incremento tanto del número como de la severidad de los casos, peor respuesta a los tratamientos habituales y una mayor recurrencia [1]. Estos cambios fueron debidos a la aparición de una cepa hipervirulenta conocida como B1/NAP/027 en Canadá que asocia diarrea severa y colitis [7,8,9].

1.1. Epidemiología

CD forma parte de la flora fecal normal en el 1-3% de los pacientes en la comunidad y en más del 20% de los adultos hospitalizados [7]. Se encuentra en las heces tanto de los pacientes sintomáticos como de los asintomáticos y el contagio se produce dentro del hospital en un entorno contaminado con esporas [1]. A pesar de que la mayoría de la infección por *Clostridium difficile* (ICD) sea nosocomial, la infección en la comunidad va en aumento representando un tercio de los nuevos casos [10].

Es común que el CD se encuentre en la microbiota intestinal de neonatos y adultos sanos. La incidencia es más alta en la población infantil (70%) que en la población adulta (17%) [11]. Se conocen como portadores sanos los neonatos, en los cuales la enfermedad es más rara probablemente porque no expresan los receptores para la toxina implicada en la ICD [1].

1.2. Patogenia

El CD coloniza el intestino debido a la ingesta de las esporas de CD toxigénico que resisten a la acción de los ácidos, del calor y de los antibióticos, liberando dos exotoxinas proteicas (TcdA y TcdB) que, en combinación con la alteración de la microbiota colónica, permite la colonización por este microorganismo. Los dos factores que tienen mayor influencia en la expresión clínica de la enfermedad son la virulencia de la cepa y el sistema

inmune del paciente [1,3,4,10,11,12]. Además, la edad avanzada, mayor severidad de la enfermedad base o una prolongada estancia hospitalaria son factores predisponentes para desarrollar la enfermedad (figura 1).

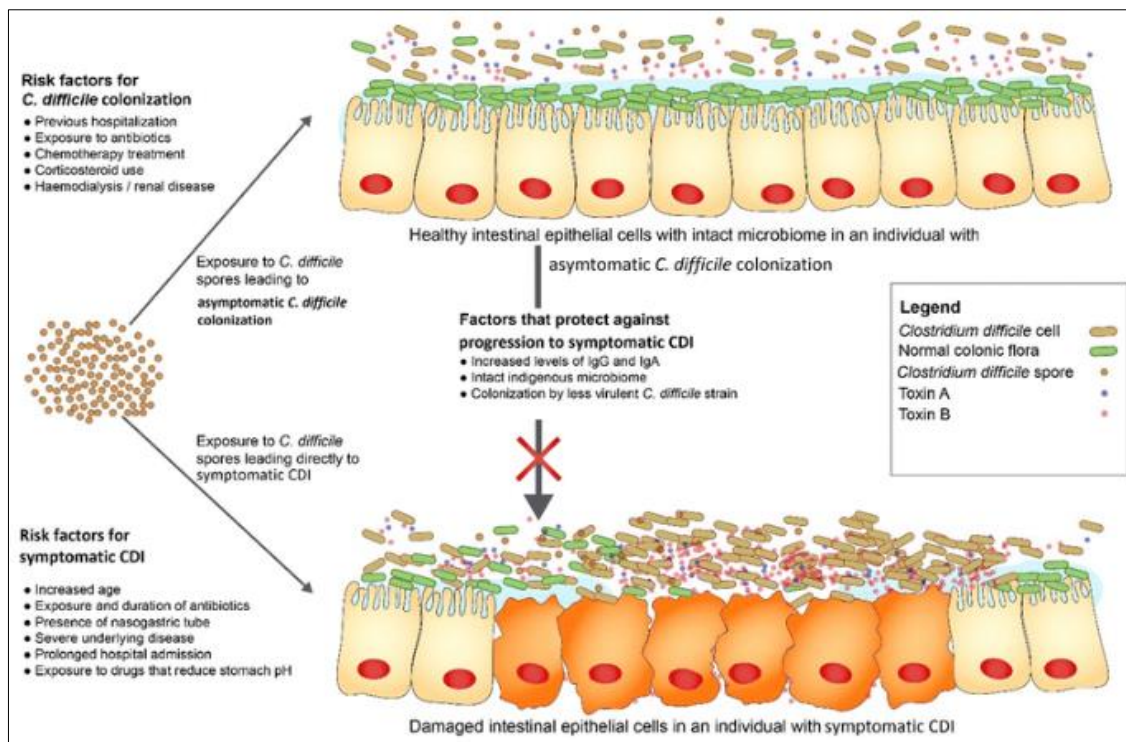


Figura 1. Patogénesis del CD (Tomado de Furuya-Kanamori et al. 2015) [3]

Todas las cepas toxigénicas de CD, a diferencia de las no toxigénicas, presentan un locus de patogenicidad (PaLoc) que contiene 5 genes (*tcdA*, *tcdB*, *tcdC*, *tcdE*, *tcdR*). Los genes *tcdA* y *tcdB* codifican dos toxinas TcdA y TcdB que son responsables de la patogenicidad del CD [1,13]. Las toxinas albergan un dominio de unión al receptor y un dominio transmembrana y poseen actividad glucosiltransferasa. Se demostró que las toxinas de CD se unen a la superficie de la célula y se translocan al citosol de las células epiteliales del huésped, donde glucosilan e inactivan GTPasas importantes (incluido Rho, Rac y Cdc42), lo que lleva a la desestructuración del citoesqueleto de actina y a su apoptosis [5,14].

El gen *tcdC* actúa como un posible regulador negativo de la producción de toxinas evitando la expresión de todo el PaLoc y el gen *tcdR* puede servir como un regulador positivo de la expresión de *tcdA* y *tcdB*. El gen *tcdE* facilita la liberación de TcdA y TcdB través de la actividad lítica sobre la membrana de la célula bacteriana (figura 2). [1]

Además del PaLoc, algunas cepas toxigénicas de CD tienen la capacidad de producir una tercera toxina, denominada toxina binaria (CDT), formada por dos componentes *cdtA*,

que actúa como una ADP-ribosiltransferasa dirigida a actina, y *cdtB* que es capaz de unirse a la célula y translocar la fibronectina al citosol presumiéndose que mejora la adherencia bacteriana y la persistencia del CD [11]. Pero a pesar de los avances, la patogénesis todavía no está clara.

Otros factores de virulencia importantes que contribuyen a la patogénesis del CD incluyen adhesinas, flagelos, cápsula, fimbrias y proteínas de la capa superficial (SlpA) [4,14].

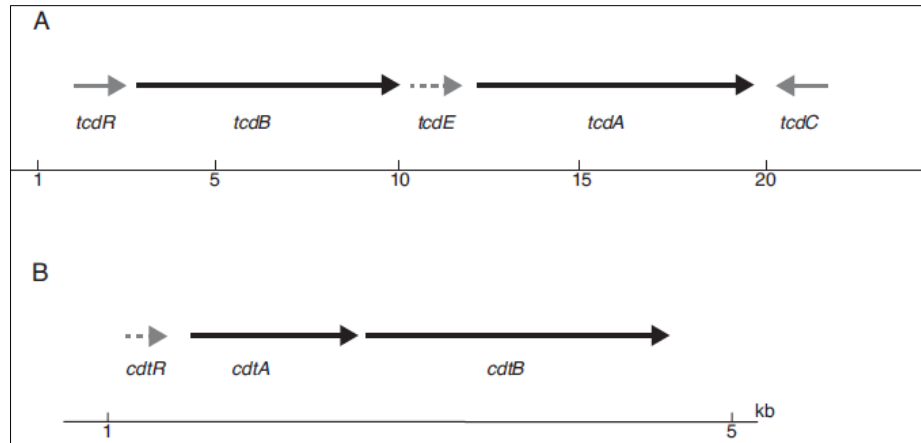


Figura 2. A) Esquema del *locus* de patogenicidad (PaLoc) que contiene los genes *tcdA*, *tcdB*, los genes reguladores *tcdR* y *tcdC* y la holina *tcdE*. B) Toxina binaria. (Tomado de Rodríguez-Pardo et al. 2013) [1]

1.3. Factores de Riesgo

El factor de riesgo más importante en la ICD sigue siendo la exposición a los antibióticos principalmente la ampicilina, las cefalosporinas de tercera generación y la clindamicina que fueron los primeros que se han identificado [15,16]. Posteriormente se ha implicado a las fluoroquinolonas en los brotes epidémicos nosocomiales, pero se ha comprobado que cualquier antibiótico puede estar implicado principalmente los que tienen acción anaerobica (tabla 1) [1,10,17]. No obstante, los pacientes mayores hospitalizados y en tratamiento antibiótico son el principal grupo de riesgo [4]. Por otro lado, las infecciones adquiridas en la comunidad constituyen en torno al 25% del total de los casos de ICD y ocurren en pacientes que no presentan los factores de riesgo habituales ya que suele afectar a pacientes jóvenes y sin tratamiento antibiótico previo [7]. Se considera ICD adquirida en la comunidad cuando el paciente no ha pernoctado en un centro sociosanitario en las 12 semanas previas al comienzo de la infección [4].

No hay datos concluyentes en relación con el efecto benefactor de los inhibidores de la bomba de protones, los laxantes o los antiinflamatorios no esteroideos. Lo que se ha

determinado es que la combinación de varios antibióticos y la duración del tratamiento aumentan el riesgo de ICD [7] (tabla 2).

Tabla 1. Clases de antibióticos y su asociación con la ICD (Tomado de A.Leffler et al. 2015) [10]

Class	Association with <i>C. difficile</i> Infection
Clindamycin	Very common
Ampicillin	Very common
Amoxicillin	Very common
Cephalosporins	Very common
Fluoroquinolones	Very common
Other penicillins	Somewhat common
Sulfonamides	Somewhat common
Trimethoprim	Somewhat common
Trimethoprim-sulfamethoxazole	Somewhat common
Macrolides	Somewhat common
Aminoglycosides	Uncommon
Bacitracin	Uncommon
Metronidazole	Uncommon
Teicoplanin	Uncommon
Rifampin	Uncommon
Chloramphenicol	Uncommon
Tetracyclines	Uncommon
Carbapenems	Uncommon
Daptomycin	Uncommon
Tigecycline	Uncommon

Tabla 2. Principales factores de riesgo implicados en la ICD [1,2,4,7,10]

Exposición a antibióticos de amplio espectro
Hospitalización prolongada
Ingreso en una unidad de cuidados intensivos
Proximidad física de un individuo infectado
Edad avanzada (mayor de 65 años)
Gravedad de enfermedades subyacentes
Enfermedad inflamatoria intestinal
Inmunosupresión
Escasa respuesta inmune a las toxinas
Procedimientos gastrointestinales no quirúrgicos
Episodio previo
Uso de antiácidos

1.4. Manifestaciones Clínicas

La presentación clínica de la ICD varía desde el portador asintomático, de diarrea leve a moderada (que es el síntoma predominante) hasta los casos de colitis fulminante, megacolon tóxico, sepsis o incluso la muerte del paciente en los casos severos y fulminantes [1,2,3,4,5,7,18]. La diarrea se define como la presencia de heces sueltas, acompañadas de tres o más deposiciones acuosas sin sangre en 24h o menos, o la percepción del paciente de un mayor número de deposiciones de lo normal. La ICD se clasifica según su gravedad (leve a moderada, grave, grave/complicada y recurrente) con el fin de poder aplicar el tratamiento más adecuado o la necesidad de medidas más urgentes como puede ser la necesidad de cirugía o el ingreso en una unidad de cuidados intensivos (tabla 3) [4,5]. En general, se puede considerar que un episodio de ICD es grave si se cumple los criterios incluidos en la tabla 4 [1].

Tabla 3. Clasificación de la ICD según la gravedad de la enfermedad (Tomado de Alcalá Hernández et al. 2015) [4]

Categoría de la ICD	Signos clínicos y de laboratorio	Factores de riesgo asociados
Leve a moderada	Diarrea sin signos sistémicos de infección, recuentos leucocitarios de < 15.000/ μ l, creatinina sérica <1,5 veces el nivel basal	Uso de antibióticos, hospitalización previa, prolongada estancia hospitalaria, uso de inhibidores de la bomba de protones, quimioterapia, enfermedad renal crónica, sonda alimentación
Grave	Signos sistémicos de infección y/o recuentos leucocitarios de \geq 15.000/ μ l o creatinina sérica \geq 1,5 veces el nivel basal	Edad avanzada, infección por la cepa BI/NAP1/027
Grave, complicada	Signos sistémicos de infección incluyendo hipotensión, íleo o megacolon	Todos los anteriores más cirugía reciente, historia de enfermedad inflamatoria intestinal y tratamiento intravenoso con inmunoglobulinas
Recurrente	Reurrencia en las 8 semanas siguientes tras haber completado el tratamiento para ICD correctamente	Paciente de \geq 65 años, uso concomitante de antibióticos, presencia de comorbilidades significativas, uso concomitante de inhibidores de la bomba de protones, mayor gravedad del episodio inicial, alta carga de <i>C. difficile</i> en muestra de heces

Tabla 4. Criterios de gravedad de la ICD (Tomado de Rodríguez-Pardo et al. 2013) [1]

<p>Síntomas y signos clínicos y analíticos de colitis severa por <i>C. difficile</i></p> <p>Requerimiento de ingreso en una unidad de cuidados intensivos</p> <p>La presencia de al menos 2 de los siguientes factores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Edad superior a 70 años Leucocitosis superior a 15.000 células/mm³ Desviación a la izquierda marcada (neutrófilos segmentados > 20% del recuento de leucocitos) Aumento de la creatinina \geq 1,5 veces el valor basal Lactato sérico > 2,5 mmol/l Temperatura > 38,5 °C Más de 10 deposiciones diarreicas diarias Presencia de íleo paralítico o signos de peritonitis Albúmina < 2,5 mg/dl <p>Evidencia de colitis en el examen mediante tomografía computarizada</p>

Hay una cuarta categoría de la ICD denominada de recurrente y que se define tras 8 semanas de haber completado el tratamiento correctamente [2,19]. Una vez solucionado el episodio inicial, puede reaparecer en el 20% de los casos tras el primer episodio y presentación clínica es más grave que el episodio inicial. Los pacientes con una primera recurrencia tienen altas posibilidades de padecer una nueva recurrencia en un 33-60% y es mayor en pacientes mayores, con episodios iniciales graves, uso concomitante de antibióticos y una alta carga de CD en la muestra de heces [1,7,12,13,14,20].

1.5. Protocolos de Diagnóstico

El diagnóstico de la ICD empieza por una correcta sospecha clínica, aunque en la mayoría de las veces hay un infradiagnóstico muy importante. Además, se basa en la combinación de criterios clínicos y datos de laboratorio:

- a) Diarrea (3 o más deposiciones diarias durante más de 24h) o la existencia de íleo o megacolon tóxico;
- b) Detectar la presencia de las toxinas A y/o B y/o aislamiento de CD toxigénico en heces en ausencia de otra causa para la diarrea;
- c) Evidencia histológica o visualización directa por colonoscopia de pseudomembranas en el colon [4,7].

Las muestras adecuadas para la detección de CD son heces no formes, acuosas o sueltas y se recomienda coger una sola durante el mismo episodio de la ICD (excepto en los pacientes con íleo o megacolon tóxico). Debe transportarse en recipientes estériles, herméticos y sin medio de transporte (aunque se ha visto que el medio de Cary-Blair es igualmente aceptable) y se recomienda conservar la muestra a temperatura adecuada (en frío a 2 - 8°C) o congelarla si no se va a usar de inmediato (- 60°C a - 80°C). Se deben testar todas las muestras procedentes de pacientes con diarrea (sintomáticos) independientemente de su edad (salvo niños menores de 2 años), su origen (hospitalizado o no) o la petición microbiológica [4,7,21].

El método que fue considerado de referencia, por muchos autores, para detectar las toxinas en las heces son los estudios de citotoxicidad en cultivo celular. Esta prueba consiste en inocular un filtrado de las heces en diferentes líneas celulares (fibroblastos humanos) y pasadas 24 - 48h si hay toxina B se observará su efecto citopático sobre el cultivo celular. Es necesario usar una antitoxina frente a la toxina B de CD para neutralizar los efectos citopáticos inespecíficos. Su principal ventaja es su gran especificidad, pero la sensibilidad es baja y la demora diagnóstica [1,21].

El cultivo toxigénico consiste en el cultivo de las muestras de las heces (a través de un medio de sangre) y la detección de las toxinas en los aislados de CD. Se hace un pretratamiento de la muestra mediante calor o alcohol para reducir el crecimiento de la microbiota habitual cuando existe una baja concentración de antibióticos. Como es poco específico debido a la presencia de cepas no toxigénicas, hay que confirmar la presencia de cepas toxigénicas a través de técnicas de inmunoensayo (IE) [4,7].

La detección rápida de las toxinas A y/o B se lleva a cabo mediante técnicas de (IE). Aunque su especificidad es muy elevada, su principal desventaja es la baja sensibilidad cuando se compara con el cultivo toxigénico lo que puede llevar a un importante número

de falsos positivos y de falsos negativos. Por lo tanto, no se recomienda usar de forma aislada para el diagnóstico de la ICD. [1,4].

Otro método es la detección de la enzima glutamato deshidrogenada (GDH) que es una enzima de la pared celular producida en grandes cantidades por las cepas de CD, pero no puede distinguir entre cepas toxigénicas de las no toxigénicas por lo que su especificidad y el valor predictivo positivo son bajos. Así se han comercializado pruebas para la detección simultánea de antígeno GDH y la toxina A y/o B ofreciendo ambos resultados a la vez [1,7,21].

Los ensayos basados en la amplificación de los ácidos nucleicos (AAN) tienen como diana el gen *tcdB* aunque algunos pueden detectar el gen *tcdA* o las cepas hipervirulentas. Son pruebas bastante rápidas con lo que se puede obtener un resultado en el mismo día de la toma. Su principal inconveniente es el precio elevado y el otro, es que detecta el gen y no la toxina (tabla 5) [1,4,7,21].

Tabla 5. Métodos diagnósticos de la ICD (Tomado de Rodríguez-Pardo et al. 2013) [1]

Método	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Tiempo de respuesta	Observaciones
Estudio de citotoxicidad	65-85	> 97	2-3 días	Se necesita personal experimentado. Resultados subjetivos
Cultivo	> 90	80-90	2-3 días	No implica que la cepa sea toxigénica
Cultivo + estudio de citotoxicidad	> 90	> 95	3-4 días	Excesivamente laborioso y lento
Enzimoimmunoensayos				
Detección de glutamato deshidrogenasa	60-90	85-95	Minutos	Solo indica la presencia de <i>C. difficile</i> . Alto valor predictivo negativo. Se precisa completar con estudios posteriores
Detección de toxinas (A y/o B)	50-85	90-95	Minutos	Si bien son técnicas rápidas, en general presentan baja sensibilidad. Especialmente si solo se detecta la toxina A
Detección de ácidos nucleicos	> 90	> 97	Horas	Si bien son costosas, diferentes estudios de coste-beneficio en el global del coste por infección por <i>C. difficile</i> pueden justificar su aplicación

Como no existe un método diagnóstico ideal se han diseñado varios algoritmos diagnósticos recomendados por la *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID) representados en la figura 3, que aplican en primer lugar un test sensitivo y después un test específico [4].

La mayoría propone como método inicial la detección de la GDH o el uso de AAN y como métodos confirmatorios de resultados positivos se usan las técnicas moleculares. Estos son los denominados algoritmos de 2 pasos [21].

Los algoritmos de 3 pasos acrecientan un IE que detecta las toxinas A y/o B entre la técnica sensible y la técnica específica. Así, los resultados GDH (+) son confirmados mediante técnicas moleculares para las muestras con resultados discordantes [GDH (+) / toxinas (-) o GDH (-) / toxinas (+)]. Los dispositivos que realizan a la vez los IEs de la GDH y de las toxinas reducen el tiempo global del procedimiento [1].

Entre todos estos métodos de referencia, unos autores consideran el cultivo toxigénico el *gold standard* en cuanto que otros creen que es el estudio de citotoxicidad [1,4,7,21,22]. Las cepas de CD son fenotípicamente indistinguibles por lo que son necesarios estudios moleculares que permitan detectar brotes, caracterizar la enfermedad, reconocer cepas de alta virulencia, establecer el mecanismo de transmisión y diferenciar si es una recidiva o una reinfección. El método más utilizado en Europa y Australia es el ribotipado que consiste en la amplificación de los genes mediante PCR en cuanto que en Norteamérica se usa la electroforesis en campo pulsado (PFGE). El ribotipado se destaca por su sencillez y adecuada reproductibilidad. Otras técnicas como el análisis de secuencias de múltiples locus (MLST) y la técnica de secuenciación del genoma completo (WGS), parecen igual de eficaces e incluso mejores que el ribotipado pero su coste es bastante elevado [7,23].

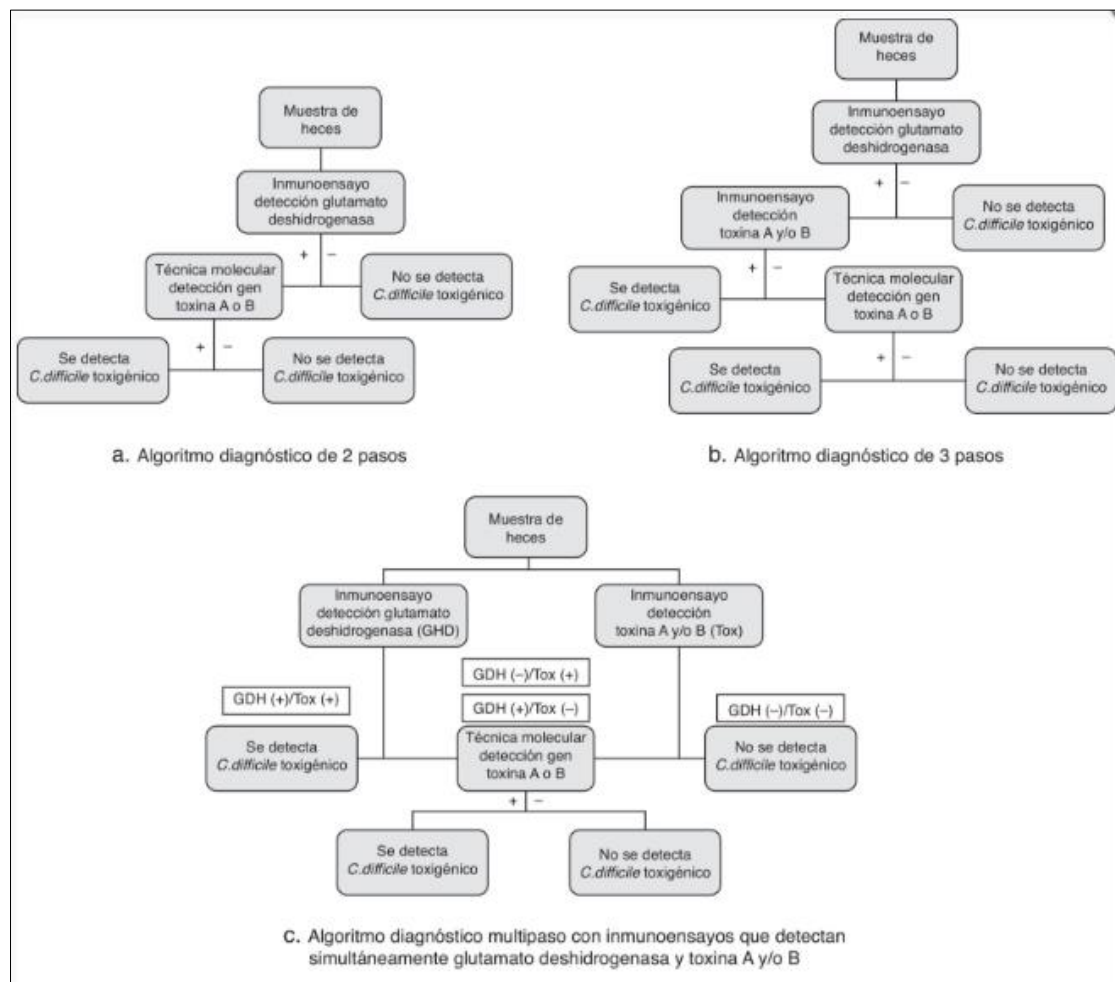


Figura 3. Algoritmos diagnósticos de la ICD (Tomado de Alcalá-Hernandez et al. 2015) [4,7]

1.6. Tratamiento Actual

El principio general del tratamiento de la ICD incluye medidas generales como retirar los antibióticos que predisponen a la infección y tratamiento de soporte (como el manejo de fluidos y de electrolitos).

El tratamiento de la diarrea asociada a CD (DACD) debe tener en cuenta la gravedad del cuadro clínico (tablas 3 y 4). Las recomendaciones se basan en ESCMID y se encuentran descritas en la tabla 6.

- A. Leve a moderada: metronidazol por vía oral es el fármaco de elección (grado de recomendación A-I) [13,24,25]. Otras alternativas son vancomicina o fidaxomicina, siendo que este último tiene un precio bastante elevado lo que limita su uso [2]. No obstante, un estudio reciente, sugiere que vancomicina es superior clínicamente al metronidazol (calidad moderada) y fidaxomicina es superior a la vancomicina. Las diferencias en la efectividad entre estos antibióticos no fueron demasiado grandes y la ventaja del metronidazol es su costo mucho más bajo en comparación con los otros dos antibióticos. [8,26].
- B. Grave, Complicada: el uso de vancomicina oral (grado A-I) logra altas concentraciones intracolónicas con mínimos efectos adversos sistémicos. Si el tratamiento por vía oral no es posible, se puede administrar metronidazol intravenoso combinado con vancomicina en enema de retención o por sonda nasogástrica (B-III). El manejo quirúrgico se debe llevar a cabo por un equipo multidisciplinar: la ileostomía y la colectomía total se recomiendan cuando hay perforación, inflamación sistémica, íleo grave y megacolon tóxico [5,25,27].
- C. Reurrencia de la ICD: se recomienda tratar la primera recurrencia con el mismo esquema terapéutico que en el episodio inicial [9]. En las siguientes recurrencias hay múltiples estrategias - como fidaxomicina o vancomicina – pero Fitzpatrick et. al 2018, recomienda el uso del trasplante fecal tanto por vía oral como por vía rectal, a partir de un donante sano (A-I). Ha demostrado ser un método eficaz para restaurar la flora del colon que se encuentra alterada [1,5,9,11,13,19,25,28].

Metronidazol, vancomicina y fidaxomicina son los fármacos de elección para el tratamiento de la ICD, así mismo las guías internacionales recomiendan realizar estudios

periódicos de vigilancia y de seguimiento con el fin de conocer la sensibilidad a estos fármacos, detectar resistencias o de cepas con CMI anormalmente altas [1].

Tabla 6. Recomendaciones para el tratamiento de la ICD por ESCMID (Modificado de Fitzpatrick 2018) [5,25]

Gravedad de ICD	Tratamiento Antibiótico Oral	Si el tratamiento Oral no es Posible
Leve a moderada	Metronidazol 500mg 3x/día (A-I)	Metronidazol 500mg iv 3x/día durante 10 días (A-II)
	O Vancomicina 125mg 4x/día (B-I)	
	O Fidaxomicina 200mg 2x/día (B-I)	
	Todos durante 10 días	
Grave	Vancomicina 125mg 4x/día (A-I)	
	Fidaxomicina 200mg 2x/día (B-I)	
	Todos durante 10 días	
Grave, Complicada	Vancomicina 125mg 4x/día (A-I). Considerar aumentar a 500mg 4x/día (B-III).	Metronidazol 500mg iv 3x/día durante 10 días (A-II), en combinación con cualquiera (B-III)
	O Fidaxomicina 200mg 2x/día (B-I)	Enema de retención con Vancomicina por vía rectal (500mg diluido en 100 ml de suero salino 4x/día) (B-III)
	Todos durante 10 días	O Vancomicina 500mg 4x/día por la sonda nasogástrica durante 10 días (B-III)
Primera Recurrencia	Fidaxomicina 200mg 2x/día (B-I)	
	O Vancomicina 125 mg 4x/día (B-I)	
	O Metronidazol 500mg 3x/día (C-I)	
	Todos durante 10 días	
Múltiples Recurrencias	Fidaxomicina 200mg 2x/día durante 10 días (B-II)	Trasplante Fecal en combinación con el tratamiento antibiótico oral (A-I)
	Vancomicina 125 mg 4x/día: durante 10 días con dosis decrecientes (B-II)	

2. JUSTIFICACIÓN

La ICD es un problema muy importante a nivel mundial y la primera causa de diarrea nosocomial en los países desarrollados con una elevada morbilidad y mortalidad.

En los últimos años ha aumentado su incidencia, recurrencia y morbilidad y mortalidad debido, entre otras causas, a la aparición de nuevas cepas más virulentas y resistentes a los antimicrobianos habituales, como la cepa B1/NAP1/027.

Esta situación ha determinado la necesidad de buscar nuevas formas de diagnóstico y tratamiento y potenciar las medidas de prevención.

3. OBJETIVOS

El principal objetivo general de este trabajo es dar a conocer la situación actual de este problema no solo a nivel nacional como también a nivel mundial.

Los objetivos específicos previstos son:

1. Estudiar el coste total del tratamiento y la incidencia.
2. Analizar la inclusión de los biomarcadores como complemento en el diagnóstico. para una mejor actuación a nivel profesional.
3. Valorar el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.
4. Examinar las medidas de prevención necesarias para el control de la infección.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión bibliográfica sobre el tema “*Clostridium difficile*: Situación actual”.

Para la realización de la búsqueda se ha utilizado la base de datos online “PubMed MEDLINE” y se ha limitado al periodo comprendido entre el año de 2013 y 2018, mediante la introducción de los siguientes descriptores: “*Clostridium difficile* infection”/infección por *Clostridium difficile*, “pathogenicity”/patogenicidad, “fecal microbiota transplant”/trasplante fecal, “gut microbiota”/microbiota intestinal, “antibiotics”/antibióticos, “probiotics”/probióticos, “biomarkers”/biomarcadores, que fueron entrelazados mediante operadores booleanos para la obtención de diferentes artículos.

A partir de una extensa preselección inicial, fueron seleccionados los artículos en inglés y en español más relevantes en función de los objetivos planteados.

Asimismo, se han explorado otras páginas web internacionales como cdc.gov y who.int (OMS).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Incidencia en España, Europa y USA y el Coste del Tratamiento.

En la última década, la epidemiología de la ICD ha sufrido un cambio dramático, con un incremento del número de casos y de gravedad de la infección en Estados Unidos (EEUU), Canadá y Europa. La irrupción de la cepa hipervirulenta NAP1/BI/027 en Canadá a principios de este siglo y su propagación a EEUU y gran parte de la Europa contribuyó tanto para el aumento de la incidencia como a su mortalidad [4]. Se estima que en el año de 2011 surgieron 450.000 casos en los EEUU y 172.000 en la Europa con un costo asociado de 3 billones de euros por año [18,29].

No existen datos oficiales sobre la incidencia de la ICD en España ya que no es una enfermedad de declaración obligatoria [4], pero se estima que ocurren 7601 episodios por año (incidencia de 17.1 casos / año / 10.000 altas hospitalarias) con un gasto anual para el SNS de 32.157.093€. A pesar de que los antibióticos (metronidazol y vancomicina) sean la clave para el tratamiento del CD solo representan 0,5% del coste total, ya que el 95,6% se debe a la prolongación de la estancia hospitalaria, 2,8% a las intervenciones quirúrgicas y el 1,1% a las medidas de control de la infección (guantes, batas y termómetros desechables) (figura 4). El coste por episodio de DACD es de 3.901€ (infección inicial), 4.875€ (primera recurrencia) y 5.916€ (segunda recurrencia), siendo el coste total de las recurrencias de 10.426.750 € anuales (tabla 7) [29,30,31].

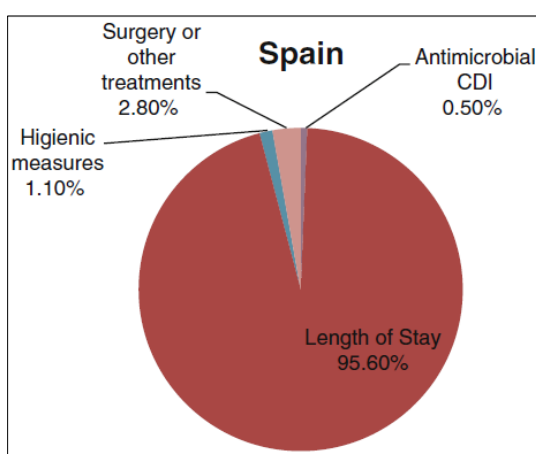


Figura 4. Distribución de los Costes en la ICD (Tomado de Reigadas Ramírez et al. 2018) [29]

Tabla 7. Coste anual para el Sistema Nacional de Salud del tratamiento de la DACD. Resultados nacionales, en millones de euros. (Tomado de Asensio et al. 2013) [30]

Variable (valor del caso base)	Valores	Coste anual (millones de €)
<i>Caso base</i>	Medios	32,1
<i>Análisis de sensibilidad</i>		
Incidencia anual de la DACD (por 10.000 altas) :17,1	12,2	22,9
	24,0	45,1
Tasa de letalidad en los pacientes con DACD :31,00%	12,30%	40,8
	48,00%	24,2
Nº de días de ingreso (infección inicial/ 1ª recurrencia/ 2ª recurrencia) (7,4/9,1/10,8 días)	3,7/5,0/7,3	17,5
	8,0/9,7/11,3	34,3
Coste de un día de ingreso hospitalario: 434,00 €	390,60 €	29,8
	477,40 €	34,5
Coste de un día de ingreso en UCI: 1.131,07 €	1.017,96 €	31,4
	1.244,18 €	32,9
Ingreso en UCI (infección inicial/ 1ª recurrencia/2ª recurrencia) (9,6/11,7/13,1%)	0,3/1,0/1,0%	27,9
	11,0/13,3/15,0%	32,8
Coste de la intervención quirúrgica (GRD 148 y 149): 9.868,83 €	7.561,89 €	31,9
	12.175,78 €	32,4
Pacientes que son intervenidos quirúrgicamente (GRD 148 y 149) (1,2%)	0,30%	31,5
	1,30%	32,2
Medidas de control de la infección* (valores medios del uso de recursos y costes unitarios)	Valores mínimos	31,8
	Valores máximos	32,5

DACD: diarrea asociada a *Clostridium difficile*.DACD: UCI: unidad de cuidados intensivos.

* Guantes, batas y termómetros desechables.

5.2. Utilidad de los Biomarcadores

Los métodos de diagnóstico para la ICD siguen siendo defectivos lo que ha motivado la búsqueda de nuevas estrategias que incluyen biomarcadores fecales, interleucinas (IL) y quimiocinas.

A. Biomarcadores Fecales

La calprotectina fecal (CF) es un biomarcador presente en las heces. Aunque su sensibilidad y especificidad sean bajas, los niveles altos de CF se asocian más con los pacientes que presentan DACD. Pero su correlación con la gravedad del cuadro clínico no está demostrada y los resultados son contradictorios. Además, otros estudios que incluyen la correlación entre el ribotipo y la ICD fue evaluada demostrando posible implicación, pero los resultados no fueron suficientemente significativos para poder afirmarlo. Igualmente, la infección no se puede diferenciar de la inflamación por este marcador, ya que ambos aumentan en los niveles de CF. En conclusión, existe una

evidencia insuficiente para el uso de los niveles de CF para predecir la gravedad o la presencia del ribotipo 027 [21,32].

La lactoferrina fecal (LF) es otro biomarcador que se correlaciona con la infiltración neutrofílica y es útil en el diagnóstico de las enfermedades inflamatorias [21]. Múltiples estudios expusieron que puede ser un marcador de grande interés en la ICD; niveles más elevados de LF fueron encontrados en pacientes con DACD, pero también en los que no tenían ICD (especificidad baja). Sin embargo, a pesar de la asociación de los niveles elevados de LF y la ICD, su especificidad es insuficiente para implementarlo como método de diagnóstico [21,33,34]. Otro problema es que LF puede elevarse debido a comorbilidades, como la colitis ulcerosa o la Enfermedad de Crohn; igualmente no hay estudios que indiquen que pueda ser un predictor de mortalidad o de gravedad. Por lo tanto, se necesita más investigación para entender el papel de la LF.

La prueba de leucocitos fecales (PLF) por su baja sensibilidad (14%) no es una buena predictora de la ICD [21].

B. Interleucinas y Quimiocinas

La IL8 es una quimiocina que recluta los neutrófilos hasta la zona donde se encuentra la infección. Los macrófagos y las células dendríticas producen IL23. Se estudió la implicación que pudieron tener en la ICD. Se percibió que la IL8 aumenta en los pacientes que presentan DACD mientras que la IL23 disminuye en estos pacientes. Así, concluyeron que la IL8 juega un papel fundamental y que sus niveles elevados se correlacionan con la severidad del cuadro clínico. Sin embargo, los bajos niveles de IL23 se correlacionan con una respuesta inmune deficitaria lo que puede explicar las recurrencias [35].

Además, en una investigación se estudió la correlación entre la enfermedad inflamatoria intestinal y la gravedad de la ICD en pacientes sintomáticos hospitalizados. Se encontró que el mRNA CXCL-5 y el mRNA IL8 fecales podrían asociarse a la persistencia de la diarrea y con su resolución [36]. Sin embargo, son necesarios más estudios para comprobar esta teoría.

5.3. Nuevas Perspectivas Terapéuticas

Con respecto a otras alternativas terapéuticas, existen experiencias promisoras, pero se necesitan más estudios. Dentro de ellos se distinguen:

A. Antimicrobianos

Cadazolid es una oxazolidinona que inhibe la síntesis proteica y tiene actividad bactericida contra las toxinas A y B de CD. Varios estudios demostraron que cadazolid tiene un impacto limitado en la microbiota intestinal y una baja propensión a desarrollar resistencia lo que hace un futuro candidato para combatir la ICD. Se necesitan más estudios para comparar su eficacia con vancomicina [13].

LFF571 es un antibiótico tiopeptídico semi-sintético que demostró una potente actividad in vitro en la ICD moderada. En un estudio de fase II, los pacientes tratados con LFF571 tuvieron una mejor respuesta inicial, pero no se encontraron diferencias significativas en la aparición de recurrencias. Así se concluyó que no era inferior al tratamiento con vancomicina [37].

Ridinilazole es un antibiótico de pequeño espectro que tiene actividad selectiva frente a CD y mínima acción sobre la microbiota. El mecanismo de acción aún no se conoce, pero se sugiere que puede interferir la división celular. Varios estudios in vitro compararon ridinilazole con vancomicina y metronidazol y su eficacia fue superior en ambos casos [13].

CRS3123 actúa sobre el tRNA sintetasa impidiendo el crecimiento y la producción de toxinas [5]. Concluyó la fase I del ensayo clínico y se espera que los estudios de fase II comiencen en un futuro cercano.

B. Terapias inmunológicas

Recientemente se aprobó bezlotoxumab, un anticuerpo monoclonal anti-toxina B administrado en adyuvancia, que demostró reducir el riesgo de recurrencia de la ICD en 40-50% en comparación con la vancomicina sola [12,25].

Están en estudio tres vacunas, dos contra las toxinas A y B y una tercera que usa una única proteína de fusión recombinante de las toxinas A y B. Se ha demostrado que las vacunas son generalmente bien toleradas. Sin embargo, no hay relaciones claras entre la dosis y la respuesta. Además, hay evidencia de que los niveles de anticuerpos de la vacuna pueden disminuir a largo plazo. Estos puntos de discusión muestran la necesidad de más investigaciones sobre la dosis óptima, el programa de dosificación y la formulación de las vacunas con toxoide. Finalmente, la eficacia de las vacunas parece prometedora, pero se necesita más investigación para determinar sus beneficios clínicos [32,33].

C. Terapias basadas en la microbiota

La recurrencia de la ICD se debe a una disminución respuesta inmune o una alteración de la microbiota intestinal. El trasplante de microbiota fecal (TMF) restaura la composición y la función de la microbiota [13]. Diversas investigaciones, estudiaron el TMF en la prevención de la recurrencia después de la aplicar el tratamiento inicial para la ICD. Una revisión recientemente publicada, concluyó que TMF con o sin tratamiento antibiótico previo, también podría ser una alternativa prometedora y se encuentra en estudio [37]. El TMF consiste en la introducción de una solución de materia fecal por colonoscopia o por sonda nasogástrica, aunque se está estudiando la posibilidad de administración oral de una cápsula con materia fecal congelada que parece promisoría [13]. La selección del dador es un proceso esencial y requiere una extensiva historia clínica incluyendo los antecedentes personales, familiares y estudios complementarios [5]. Sin embargo, el desarrollo de efectos a largo plazo, incluyendo enfermedades malignas, autoinmunes y otras enfermedades asociadas a la microbiota intestinal en pacientes que recibieron TMF debe investigarse en el futuro [37].

Otras terapias que se encuentran en estudio son el rebiotix (RBX2660, fase II), un preparado que contiene bacterias vivas de CD y el SER-109 (Fase II), un preparado de microbiota fecal humana [25].

5.4. Medidas de Prevención y Control de la ICD

El principal campo de acción en el control de la ICD es prevenir la transmisión del microorganismo al paciente y reducir el riesgo de DACD si se transmite el microorganismo. Así, la promoción de la higiene de manos, la implementación de medidas de contacto y una mayor desinfección ambiental serán los principales niveles de intervención. No es eficaz el lavado de manos con soluciones alcohólicas para la eliminación de las esporas; es necesario el lavado de manos con agua y jabón. No se recomienda realizar pruebas de confirmación de curación en individuos asintomáticos tratados, porque muchos siguen teniendo el patógeno y la toxina después de que desaparezca la diarrea. Dado que los antibióticos son el principal factor de riesgo, su uso racional es una importante medida preventiva, así como la identificación y el diagnóstico precoz de los pacientes. Una vez que aparece la infección es importante colocar a estos pacientes en habitaciones individuales, uso de bata y guantes, lavado de manos tras el contacto con los pacientes infectados, utilización de equipamiento exclusivo para estos pacientes y la desinfección exhaustiva de la habitación. Los ensayos clínicos han

demostrado que la administración de una fórmula probiótica que contiene *Lactobacillus acidophilus* CL1285 y *Lactobacillus casei* LBC80R reduce los incidentes de DACD nosocomiales y reduce los costes de atención médica [11,15,38]. Otro estudio también sugiere que el uso de inhibidores de la bomba de protones y antagonistas de los receptores de histamina pueden ser considerados factores de riesgo importantes, pero sigue habiendo controversia [18]. Los principales niveles de intervención en relación con la prevención de la ICD están representados en la tabla 8.

Tabla 8. Medidas de Prevención y Control de la ICD (Modificado de C.Moore 2018) [1,2,6,18,38]

Niveles de Intervención	Descripción
Tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> • Uso prudente de todos los antibióticos: Minimizar el uso en pacientes con riesgo elevado de ICD y no administrar antibióticos de amplio espectro en pacientes con sospecha de ICD • Uso de probióticos (controvertido): algunos autores recomiendan la utilización de <i>L.acidophilus</i> CL1285 y <i>L.casei</i> LBC80R) [11,15,38] • Inhibidores de la bomba de protones y antagonistas de los receptores de histamina (controvertido) [18]
Detección de Casos y Vigilancia	<ul style="list-style-type: none"> • Detección precoz: sospecha clínica • Pruebas diagnósticas rentables: PCR, técnicas moleculares • Correcto manejo de las muestras (tiempo y temperatura) • No detectar CD para la confirmación de la curación post-tratamiento de la ICD ni en neonatos
Limpieza	<ul style="list-style-type: none"> • Del entorno y del equipamiento contaminado: fonendos, termómetros desechables a diario • Tiempo de permanencia adecuado para soluciones de limpieza (el alcohol no elimina las esporas del CD, usar lejía)
Cuidado del Paciente – Evitar Transmisión	<ul style="list-style-type: none"> • Aislamiento precoz: habituación con baño individual • Medidas de protección del personal: guantes, bata, higiene de manos con agua y jabón (no con desinfectante de manos), señalar al paciente con ICD • Equipamiento: disponible, adecuado, desechable, desinfectar si es reutilizable
Personal	<ul style="list-style-type: none"> • Instrucción • Comunicación y cooperación • Educar a los pacientes, la familia y todo el personal implicado

6. CONCLUSIÓN

A pesar de la gran preocupación e interés por la ICD, su incidencia sigue aumentando tanto en los hospitales como en la comunidad.

Los avances tanto en los métodos diagnósticos como en los tratamientos son alternativas promisoras, pero son necesarios más estudios para poder introducirlos en la práctica clínica. Además, se ha visto que los marcadores de la inflamación intestinal son clave en la ICD y pueden correlacionarse con su gravedad, aunque se requieren más investigaciones.

La sospecha clínica y la prevención son un punto clave en la reducción de la morbimortalidad a través del tratamiento precoz de la infección.

Los costes hospitalarios atribuidos a la infección por CD representan un sector bastante significativo en la economía.

El punto crucial en la ICD sigue siendo la iatrogenia por el uso de antibióticos y otros factores de riesgo.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones Producidas por *Clostridium difficile*. Enferm Infecc Microbiol Clin. [Internet]. 2013 [consultado 4 marzo 2018];31(4):254-263. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23411363>

2. Moore S. *Clostridium difficile*. Critical Care Nursing Clinics of North America [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];30(1):41-53. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899588517300928?via%3Dihub>

3. Furuya-Kanamori L, Marquess J, Yakob L, Riley T, Paterson D, Foster N et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* Colonization: Epidemiology and Clinical Implications. BMC Infectious Diseases [Internet]. 2015 [consultado 17 marzo 2018];15(1). Disponible en:

<https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-015-1258-4>

4. Alcalá Hernández L, Marín Arriaza M, Mena Ribas A, Niubó Bosh J. Diagnóstico Microbiológico de la Infección por *Clostridium difficile*. Enferm Infecc Microbiol Clin [Internet]; 2015 [consultado 17 marzo 2018]. Disponible en:

<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia53.pdf>

5. Ofosu A. *Clostridium difficile* Infection: a Review of Current and Emerging Therapies. Ann Gastroenterol [Internet]. 2016 [consultado 12 marzo 2018];29(2). Disponible en:

<http://www.annalsgastro.gr/index.php/annalsgastro/article/view/2517/1726>

6. Dingle K, Didelot X, Quan T, Eyre D, Stoesser N, Golubchik T et al. Effects of Control Interventions on *Clostridium difficile* Infection in England: an Observational Study. Lancet Infect Dis [Internet]. 2017 [consultado 19 marzo 2018];17(4):411-421. Disponible en:

[http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(16\)30514-X/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(16)30514-X/fulltext)

7. Alcalá-Hernández L, Mena-Ribas A, Niubó-Bosh J, Marín-Arriaza M. Diagnóstico Microbiológico de la Infección por *Clostridium difficile*. SEIMC [Internet]. 2016 [consultado 12 marzo 2018];34(9):595-602. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X15003225?via%3Dihub>
8. Vaishnavi C. Fidaxomicin - The New drug for *Clostridium difficile* Infection. Indian J Med Res [Internet]. 2015 [consultado 23 junio 2017];141(4):398. Disponible en:
<http://www.ijmr.org.in/article.asp?issn=0971-5916;year=2015;volume=141;issue=4;spage=398;epage=407;aulast=Vaishnavi>
9. Ponte A, Pinho R, Mota M, Silva J, Vieira N, Oliveira R et al. Initial experience with fecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* Infection - Transplant protocol and preliminary results. Rev Esp Enferm Dig [Internet]. 2015 [consultado 2 marzo 2018];107(7):402-407. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-01082017000600023
10. Leffler D, Lamont J. *Clostridium difficile* Infection. N Engl J Med [Internet]. 2015 [consultado 8 marzo 2018];372(16):1539-1548. Disponible en:
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra1403772>
11. Valdés-Varela L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P. Probiotics for Prevention and Treatment of *Clostridium difficile* Infection. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];161-176. Disponible en:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2F978-3-319-72799-8_10
12. Wilcox M, Gerding D, Poxton I, Kelly C, Nathan R, Birch T et al. Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. N Engl J Med [Internet]. 2017 [consultado 12 marzo 2018];376(4):305-317. Disponible en:
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1602615>
13. Goyal H, Perisetti A, Rehman M, Singla U. New and Emerging Therapies in Treatment of *Clostridium difficile* Infection. Eur J Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018]. Disponible en:
<https://insights.ovid.com/pubmed?pmid=29521664>

14. Gil F, Pizarro-Guajardo M, Álvarez R, Garavaglia M, Paredes-Sabja D. *Clostridium difficile* recurrent infection: Possible Implication of TA Systems. *Future Microbiol* [Internet]. 2015 [consultado 16 marzo 2018];10(10):1649-1657. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26439907>
15. Cai J, Zhao C, Du Y, Zhang Y, Zhao M, Zhao Q. Comparative Efficacy and Tolerability of Probiotics for Antibiotic-Associated diarrhea: Systematic Review with Network Meta-analysis. *United European Gastroenterol J* [Internet]. 2017 [consultado 19 marzo 2018];6(2):169-180. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5833232/>
16. Khanna S. Do tetracyclines Have the Potential to Reduce the Risk of *Clostridium difficile* Infection?. *Expert Rev Anti Infect Ther* [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];16(3):183-185. Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14787210.2018.1434413>
17. Donskey C. Fluoroquinolone Restriction to Control Fluoroquinolone-Resistant *Clostridium difficile*. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2017 [consultado 19 marzo 2018];17(4):353-354. Disponible en:
[http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(17\)30052-X/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(17)30052-X/fulltext)
18. Balsells E, Filipescu T, Kyaw M, Wiuff C, Campbell H, Nair H. Infection Prevention and Control of *Clostridium difficile*: a Global Review of Guidelines, Strategies, and Recommendations. *J Glob Health* [Internet]. 2016 [consultado 4 marzo 2018];6(2). Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5140074/>
19. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R et al. European Consensus Conference on Faecal Microbiota Transplantation in Clinical Practice. *Gut* [Internet]. 2017 [consultado 12 marzo 2018];66(4):569-580. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28087657>

20. Gerding D, Meyer T, Lee C, Cohen S, Murthy U, Poirier A et al. Administration of Spores of Nontoxigenic *Clostridium difficile* Strain M3 for Prevention of Recurrent *C. difficile* Infection. JAMA [Internet]. 2015 [consultado 12 marzo 2018];313(17):1719. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25942722>
21. Crobach M, Baktash A, Duszenko N, Kuijper E. Diagnostic Guidance for *C. difficile* Infections. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];27-44. Disponible en:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2F978-3-319-72799-8_3
22. Peng Z, Ling L, Stratton C, Li C, Polage C, Wu B et al. Advances in the Diagnosis and Treatment of *Clostridium difficile* Infections. Emerg Microbes Infect [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];7(1). Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5837143/>
23. Li Z, Liu X, Zhao J, Xu K, Tian T, Yang J et al. Comparison of a Newly Developed Binary Typing With Ribotyping and Multilocus Sequence Typing Methods for *Clostridium difficile*. J Microbiol Methods [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018]; 147:50-55. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167701218301398?via%3Dihub>
24. Spigaglia P, Mastrantonio P, Barbanti F. Antibiotic Resistances of *Clostridium difficile*. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];137-159. Disponible en:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2F978-3-319-72799-8_9
25. Fitzpatrick F, Skally M, Brady M, Burns K, Rooney C, Wilcox M. European Practice for CDI Treatment. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];117-135. Disponible en:
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2F978-3-319-72799-8_8
26. Nelson R, Suda K, Evans C. Antibiotic Treatment for *Clostridium difficile*-Associated Diarrhoea in Adults. Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2017 [consultado 22 marzo 2018]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1002%2F14651858.CD004610.pub5>

27. Papic N, Maric L, Vince A. Efficacy of Oral Vancomycin in Primary Prevention of *Clostridium difficile* Infection in Elderly Patients Treated With Systemic Antibiotic Therapy. Infect Dis [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];1-4. Disponible en:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23744235.2018.1425551>

28. Health Quality Ontario. Fecal microbiota therapy for *Clostridium difficile* Infection: a Health Technology Assessment. Ont Health Technol Assess Ser [Internet]. 2016 [consultado 19 marzo 2018];16(17):1-69. Disponible en:

<http://www.hqontario.ca/Portals/0/documents/evidence/reports/hta-fecal-microbiota-therapy-en-1607.pdf>

29. Reigadas Ramírez E, Bouza E. Economic Burden of *Clostridium difficile* Infection in European Countries. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2018 [consultado 19 marzo 2018];1-12. Disponible en:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=10.1007%2F978-3-319-72799-8_1

30. Asensio A, Bouza E, Grau S, Rubio-Rodríguez D, Rubio Terres C. Cost of *Clostridium difficile* associated diarrhea in Spain. Rev Esp Salud Pública. [Internet]. 2013 2017 [consultado 25 marzo 2018]; 87(1):25-33. Disponible en:

http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista_cdrom/vol87/vol87_1/RS871C_25.pdf

31. Asensio A, Di Bella S, Lo Vecchio A, Grau S, Hart W, Isidoro B et al. The Impact of *Clostridium difficile* Infection on Resource Use and Costs in Hospitals in Spain and Italy: a Matched Cohort Study. Int J Infect Dis [Internet]. 2015 [consultado 25 marzo 2018]; 36:31-38. Disponible en:

[http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(15\)00121-6/fulltext](http://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(15)00121-6/fulltext)

32. Bruxelle J, Péchiné S, Collignon A. Immunization Strategies Against *Clostridium difficile*. Adv Exp Med Biol [Internet]. 2018 [consultado 10 abril 2018];197-225. Disponible en:

https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-319-72799-8_12

33. Archbald-Pannone LR. Quantitative fecal lactoferrin as a biomarker for severe *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients. J Geriatr Palliat Care [Internet]. 2014. [consultado 10 abril 2018]; 2(1):3.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4230709/>

34. Boone JH, DiPersio JR, Tan MJ, Salstrom SJ, Wickham KN, Carman RJ et al. Elevated lactoferrin is associated with moderate to severe *Clostridium difficile* disease, stool toxin, and 027 infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. [Internet]. 2013. [consultado 10 abril 2018] 32 (12):1517–1523.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3825630/>

35. Darkoh C, Turnwald BP, Koo HL, Garey KW, Jiang ZD, Aitken SL et al. Colonic immunopathogenesis of *Clostridium difficile* infections. Clin Vaccine Immunol [Internet]. 2014. [consultado 10 abril 2018]; 21(4):509–517.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3993122/>

36. El Feghaly RE, Stauber JL, Deych E, Gonzalez C, Tarr PI, Haslam DB. Markers of intestinal inflammation, not bacterial burden, correlate with clinical outcomes in *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. [Internet]. 2013. [consultado 10 abril 2018]; 56(12):1713–1721.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3707425/>

37. Ooijevaar R, van Beurden Y, Terveer E, Goorhuis A, Bauer M, Keller J et al. Update of treatment algorithms for *Clostridium difficile* infection. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2018 [consultado 10 abril 2018]. Disponible en:

[http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(18\)30021-1/](http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(18)30021-1/)

38. Evans C, Johnson S. Prevention of *Clostridium difficile* Infection With Probiotics. Clinical Infect Dis [Internet]. 2015 [consultado 5 marzo 2018]; 60(suppl 2): S122-S128. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25922397>